

Пробоподготовка почв и донных отложений с использованием техники экстракционного вымораживания при хроматомасс-спектрометрическом определении ПАУ

***З.А. Темердашев¹, Т.А. Червонная¹, Т.Н. Мусорина¹, В.Н. Бехтерев²**

¹Кубанский государственный университет,
350040, Российская Федерация, г. Краснодар, ул. Ставропольская, 149,

²Сочинский государственный университет,
354000, Российская Федерация, г. Сочи, ул. Пластунская, 94

*Адрес для переписки: Темердашев Зауаль Ахлоович, E-mail: TemZA@kubsu.ru

Поступила в редакцию 21 сентября 2020 г., после доработки – 9 октября 2020 г.

Объектами исследований были почвы (Имеретинская низменность, г. Сочи), торф (ООО «Гера», Россия), морские (Темрюкский залив Азовского моря) и речные донные отложения (Курчанский лиман, Темрюкский район), песок (о. Кайо Романо, Куба). С использованием техники экстракционного вымораживания под действием центробежных сил изучена возможность пробоподготовки исследуемых объектов для ГХ-МС-определения полициклических ароматических углеводородов. Оптимизированы условия экстракции аналитов смесью ацетонитрила с водой на образцах почв и донных отложений. Общий объем экстракционной смеси составил 10 мл при экстракционном вымораживании под действием центробежных сил при температуре морозильной камеры (-28 °С), скорости вращения ротора центрифуги 4000 об/мин для навески образца 1-2 г. «Легкие» ПАУ (нафталин, 2-метилнафталин, аценафтилен, бифенил, аценафтен, флуорен, фенантрен, антрацен, флуорантен и пирен) эффективно извлекались при 15 % ацетонитрила в экстракционной смеси с пределами их ГХ-МС-определения от 0.83 мкг/кг до 0.92 мкг/кг. Для одновременного ГХ-МС-определения 20 «легких» и «тяжелых» ПАУ, концентрация ацетонитрила в экстракционной смеси должна составлять не менее 50 %. В этих условиях степень извлечения из объектов анализа «легких» ПАУ варьировала от 83 % до 97 %, «тяжелых» – от 61 % до 92 %. Разработанная методика экспрессна, позволяет проводить извлечение аналитов и очистку экстрактов в одну стадию, а также определять ПАУ ниже установленных ПДК для изученных объектов исследования. Показатели эффективности извлечения и концентрирования ПАУ из почв и донных отложений с применением разработанной пробоподготовки сопоставили с известными альтернативными вариантами и получили удовлетворительную сходимость.

Ключевые слова: полициклические ароматические углеводороды, экстракционное вымораживание, почвы, донные отложения, хроматографический анализ

For citation: *Analitika i kontrol'* [Analytics and Control], 2020, vol. 24, no. 4, pp. 287-297

DOI: 10.15826/analitika.2020.24.4.003

Sample preparation of soils and bottom sediments for gas chromatography–mass spectrometry determination of PAHs

***Z.A. Temerdashev¹, T.A. Chervonnaya¹, T.N. Musorina¹, V.N. Bekhterev²**

¹Kuban State University, ul. Stavropolskaia, 149, Krasnodar, 350040, Russian Federation

²Sochi State University, ul. Plastunskaya, 94, Sochi, 354000, Russian Federation

*Corresponding author: Zauval' A. Temerdashev, e-mail: TemZA@kubsu.ru

Submitted 21 September 2020, received in revised form 09 October 2020

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are a class of compounds which have been known to be carcinogenic, teratogenic and mutagenic as well as act as pollutants of environmental objects. The determination

of PAHs in complex matrices is difficult, and it is very important to use an efficient sample pretreatment technique. A sample preparation technique was developed involving extractive freezing-out and centrifugation of the samples for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soils and bottom sediments using gas chromatography – mass spectrometry (GC–MS). Sochi soils (The Imereti Lowlands), turf, sea bottom sediments (Azov Sea, The Temryuk Bay), river bottom sediment (Kurchansky estuary) and Caio Romano (Cuba) island sand were selected as the objects for the research. Soils and bottom sediments which contained no determined PAHs were used as model samples. The conditions of sample preparation have been optimized, and the extraction effects of acetonitrile with water on the PAHs recoveries have been investigated. It was found that for the determination of the compounds consisting from two to four fused aromatic rings such as naphthalene, 2-methylnaphthalene, acenaphthylene, biphenyl, acenaphthene, fluorene, phenanthrene, anthracene, fluoranthene and pyrene, the extraction occurred when the extractive mixture contained 15% acetonitrile. The proposed method detection limits of individual compounds ranged from 0.83 to 0.92 µg/kg. The extractive mixture containing 50% acetonitrile was proposed for the determination of 20 PAHs such as naphthalene, 2-methylnaphthalene, acenaphthene, biphenyl, acenaphthylene, fluorene, phenanthrene, anthracene, fluoranthene, pyrene, benz[a]anthracene, chrysene, triphenylene, benz[b]fluoranthene, benz[k]fluoranthene, benz[e]pyrene, benz[a]pyrene, indene[1,2,3–c,d]pyrene, dibenz[a,h]anthracene, benz[g,h,i]perylene. The extraction of PAHs in these conditions demonstrated the recoveries from 61% to 97%. As matter of fact, the lower recoveries of PAHs, that contained four or more fused aromatic rings, have been caused by the sorption in the cracks of the solid aqueous phase. The extraction, clear-up of extract and concentration were realized as one step of the sample pretreatment. As a result, the rapid and express technique of the sample preparation with combined GC-MS were proposed for the PAHs determination in soils and bottom sediments. This method's limits of individual PAHs quantitation ranged from 1 to 5 µg/kg, and these were lower than the maximum permissible concentration.

Key words: polycyclic aromatic hydrocarbons, extractive freezing-out, soils, bottom sediments, chromatography analysis.

ВВЕДЕНИЕ

Полициклические ароматические углеводороды (ПАУ) наряду с полихлоробифенилами, хлорорганическими пестицидами и диоксинами, относятся к классу суперэкоотоксикантов. Генотоксичность и канцерогенность представителей этого класса соединений доказана многочисленными исследованиями [1–5], а группа потенциально опасных ПАУ подлежит обязательному контролю [6–8]. ПАУ, попадая в объекты окружающей среды, агрегируются на различных поверхностях и накапливаются, главным образом, в почвах [9, 10]. Поскольку деградация ПАУ в почвенных системах ограничена малой доступностью и низкой скоростью диффузии, почвы и донные отложения (ДО) являются наиболее представительными объектами для оценки загрязненности территории экотоксикантами [11, 12].

При определении ПАУ в природных объектах применяют методы высокоэффективной жидкостной и газовой хроматографии с различными типами детектирования [13, 14]. Для извлечения аналитов на этапе пробоподготовки используют различные варианты твердофазной [15, 16] и жидкость-жидкостной [17, 18] экстракции. Можно отметить, например, трехкомпонентные системы [19, 20], предусматривающие применение анионогенных и неионогенных поверхностно-активных веществ [21, 22] или дисперсионной жидкость-жидкостной микроэкстракции (DLLME) [23, 24].

Известен способ экстракционного вымораживания или «extractive freezing-out», применяемый для извлечения аналитов путем кристаллизации части воды для удаления мешающих компонентов при анализе сточных вод и объектов пищевой промышленности [25]. Авторы [26, 27] реализовали

вариант вымораживания для очистки экстрактов в сочетании с жидкость-жидкостной экстракцией при определении пестицидов в воде и меде. При этом матричные компоненты оставались в кристаллической фазе, а пестициды извлекались в органическую. Оригинальным можно считать способ извлечения аналитов, в котором вариант вымораживания с экстракцией протекал на поверхности мешалки [28].

С целью снижения термического воздействия на биологический образец и аналиты, группа японских ученых предложила низкотемпературную жидкость-жидкостную экстракцию с использованием системы ацетонитрил – вода в условиях отрицательных температур (до минус 20 °C) [29]. Метод основан на эффекте расслоения смеси на две жидкие фракции при достижении критической температуры растворимости [30]. Однако данная система не обеспечивала концентрирования аналитов. По этой причине, а также относительной сложности исполнения (трудности в разделении фаз, узкий интервал объемных соотношений между пробой и экстрагентом и пр.) метод не получил широкого применения в лабораторной практике. Экстракционное вымораживание предполагает использование смешивающихся с водой растворителей и их разделение под действием низких температур (-10–40 °C) [31]. Преимущественно в качестве экстрагента применяют ацетонитрил, незамерзающий при этих температурах и хорошо отделяющийся от кристаллической фазы. Эффективность метода сопоставима с традиционно применяемыми вариантами твердофазной и жидкость-жидкостной экстракции, а в ряде случаев превосходит их по экспрессности. Авторы [32] описали применение экстракционного вымораживания для определения 12 биологически активных соединений в лечебном отваре, при этом

извлечение при температуре -35°C достигается за 35 минут. Традиционный вариант экстракционного вымораживания имеет существенные недостатки, связанные с низкой воспроизводимостью объемов экстрактов за счет частичного втягивания в формирующиеся трещины льда. Для минимизации подобных проблем, упрощения пробоподготовки и повышения степени концентрирования целевых компонентов используется экстракционное вымораживание под действием центробежных сил (**ЭВЦ**). Эффективность данного подхода при определении различных органических соединений, по мнению авторов [33] достаточно высока.

Цель данного исследования – разработка схемы пробоподготовки с использованием техники экстракционного вымораживания под действием центробежных сил при определении ПАУ хроматомасс-спектрометрическим методом в почвах и донных отложениях.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Объекты исследования. В качестве объектов исследования были выбраны образцы: почва (г. Сочи, Имеретинская низменность), торф (ООО «Гера», Россия), морские донные отложения (Темрюкский залив Азовского моря), речные донные отложения (Курчанский лиман, Темрюкский р-н), песок (о. Кайо Романо, Куба).

Реактивы и материалы. Для извлечения определяемых компонентов использовали ацетонитрил для ВЭЖХ (Sigma-Aldrich, США), бидистиллированную воду. Идентификацию и построение градуировочных кривых проводили с применением индивидуальных стандартных образцов состава раствора ПАУ: нафталин СОП 0109-03 ER-PAH 6, бифенил СОП 0107-03 ER-PAH 4, 2-метилнафталин СОП 0101-03 ER-PAH 5, флуорен СОП 0113-03 ER-PAH 9, аценафтен СОП 0103-03 ER-PAH 1, аценафтилен СОП 0104-03 ER-PAH 10, фенантрен СОП 0111-03 ER-PAH 7, антрацен СОП 0102-03 ER-PAH 2, флуорантен СОП 0112-03 ER-PAH 8, пирен СОП 0110-03 ER-PAH 12, бенз[а]антрацен СОП 0105-03 ER-PAH 15, хризен СОП 0114-03 ER-PAH 13, бенз[б]флуорантен СОП 0115-03 ER-PAH 14, бенз[к]

флуорантен СОП 0116-03 ER-PAH 16, бенз[а]пирен СОП 0106-03 ER-PAH 3, дибенз[а, h]антрацен СОП 0108-03 ER-PAH 11, бенз[г, h, i]периллен СОП 0117-03 ER-PAH 17 в ацетонитриле (НПО «Экрос», Санкт-Петербург, Россия); аналитические стандарты: бенз[е]пирен CAS 192-97-2 и индено[1,2,3-с, d]пирен CAS 193-39-5 в циклогексане, трифенилен CAS 217-59-4 (Sigma-Aldrich, США). Во всех стандартных образцах концентрации ПАУ в растворах составляли 200 мкг/мл, кроме образцов дибенз[а, h]антрацена, бенз[г, h, i]перилена, бенз[е]пирена и индено[1,2,3-с, d]пирена, в которых концентрации аналитов составляли 100 мкг/мл. Для проведения модельных экспериментов использовали гидрофобный краситель Судан III («ЛенРеактив», г. Санкт-Петербург).

Оборудование. Для проведения исследований применяли газохроматографическую систему, включающую хроматограф и моноквадрольный масс-спектрометрический детектор «Shimadzu GCMS-QP2020» (Япония). Идентификацию компонентов проводили с использованием интегрированных библиотек масс-спектров «Wiley8 – Mass Spectral Library» и «NIST-17.1», обработку полученных данных осуществляли программными пакетами «GCMSsolution» и «LabSolutions Insight».

Для экстракции аналитов в ацетонитрил использовали встряхиватель «Multi Reax» («Heidolph», Германия). Экстракционное вымораживание органических веществ из жидких сред в условиях действия центробежных сил проводили криоэкстрактором «ЭВЦ-1» (Россия).

Хроматомасс-спектрометрическое определение ПАУ. Условия разделения и масс-спектрометрического определения 20 ПАУ изложены в [34]. Разделение изомеров достигали применением хроматографической колонки длиной 60 м с привитой фазой 5%-полисиларилена+95%-диметилполисилоксана в оптимизированных условиях температурного нагрева термостата. Для повышения чувствительности и минимизации мешающего влияния матрицы применяли режим мониторинга заданных ионов – SIM (табл. 1).

Пробоподготовка образцов почвы и донных отложений. К 1 г почвы добавляли 5 мл ацетони-

Таблица 1

Условия проведения хроматомасс-спектрометрического анализа

Table 1

Conditions of the gas chromatography – mass spectrometry analysis

Температура испарителя	280 °C
Температурная программа термостата	60 °C/1 мин – нагрев 15 °C/мин – 170 °C/3 мин – нагрев 10 °C/мин – 280 °C/8 мин – нагрев 10 °C/мин – 290 °C/25 мин
Температура ионного источника	200 °C
Температура интерфейса	280 °C
Скорость газа-носителя через колонку	1.35 см ³ /мин
Коэффициент деления потока	1 : 5
Энергия ионизации	70 эВ;
Режим – «SIM», m/z	128, 142, 152, 154, 166, 178, 202, 228, 252, 276, 278
Задержка работы детектора	7 мин
Общее время анализа	56 мин

Таблица 2

Извлечение ПАУ из почвы при различных концентрациях ацетонитрила в экстракционной смеси

Table 2

PAHs recovery from soils using the extractive mixture with different acetonitrile concentrations

ПАУ	Степень извлечения ПАУ из почвы при различных концентрациях ацетонитрила в экстракционной смеси, %		
	6	30	50
Нафталин	76	82	86
2-Метилнафталин	75	80	87
Аценафтен	74	91	86
Бифенил	78	90	88
Аценафтилен	66	65	87
Флуорен	86	87	83
Фенантрен	80	95	91
Антрацен	79	91	96
Флуорантен	83	94	97
Пирен	74	88	92
Бенз[а]антрацен	72	95	90
Хризен	56	84	87
Трифенилен	50	45	63
Бенз[б]флуорантен	н/о	42	69
Бенз[к]флуорантен	н/о	42	67
Бенз[е]пирен	н/о	47	64
Бенз[а]пирен	н/о	42	86
Инден[1,2,3-с,д]пирен	н/о	36	71
Дибенз[а,г]антрацен	н/о	36	74
Бенз[г,и,п]перилен	н/о	36	61

Примечания: н/о – не обнаружено, концентрация аналита в экстракте ниже предела обнаружения $C_{\text{lim}} = 0.2$ нг/мл

трила, встряхивали в течение 20 минут при 1000 об/мин (амплитуда вибрации 3 мм), после чего система отстаивалась, затем добавляли 5 мл бидистиллированной воды и встряхивали в течение 10 минут при 500 об/мин. Пробу помещали в ротор центрифуги для проведения экстракционного вымораживания в течение 25 мин при скорости вращения ротора центрифуги 4000 об/мин и температуре морозильной установки -28 °С. Образовавшийся ацетонитрильный экстракт декантировали с поверхности льда в герметичные флаконы, взвешивали и проводили хроматомасс-спектрометрический анализ.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

Оптимизация условий экстракционного вымораживания аналита под действием центробежных сил при подготовке образцов почв и донных отложений к анализу. Обязательным условием пробоподготовки почв и донных отложений с использованием техники ЭВЦ является стабильность и воспроизводимость экстракционной смеси, высокая эффективность извлечения и возможность концентрирования аналитов. Оптимизацию состава экстракционной смеси проводили на системах с содержанием ацетонитрила от 6 до 50 %. При концентрации ацетонитрила менее 15 % наблюдали низкую экстрагирующую способность по отноше-

нию к «легким» ПАУ (нафталин, 2-метилнафталин, аценафтилен, бифенил, аценафтен, флуорен, фенантрен, антрацен, флуорантен и пирен), остальные соединения в данных условиях практически не извлекались. Одновременного извлечения «тяжелых» (бенз[а]антрацена, хризена, трифенилена, бенз[б]флуорантена, бенз[к]флуорантена, бенз[е]пирена, бенз[а]пирена, инден[1,2,3-с,д]пирена, дибенз[а,г]антрацена, бенз[г,и,п]перилена) и «легких» ПАУ достигали при 30 % ацетонитрила в экстракционной смеси. Степень извлечения «тяжелых» ПАУ повышалась с увеличением концентрации ацетонитрила (табл. 2).

Максимальное извлечение «легких» ПАУ из почвы наблюдали при 15 % ацетонитрила в экстракционной системе, которое не менялось при дальнейшем увеличении концентрации экстрагента. На рис. 1 представлена зависимость степени извлечения аценафтилена из почвы от концентрации ацетонитрила в экстракционной системе, характер зависимости для остальных представителей «легких» ПАУ аналогичен.

Изучали возможность снижения общего объема экстракционной смеси для повышения степени концентрирования аналитов. Для этого исследовали экстракционные смеси, общий объем которых варьировали от 1.2 мл до 3.5 мл с содержанием ацетонитрила от 17 до 30 % (от 0.2 до 1.0 мл). Однако

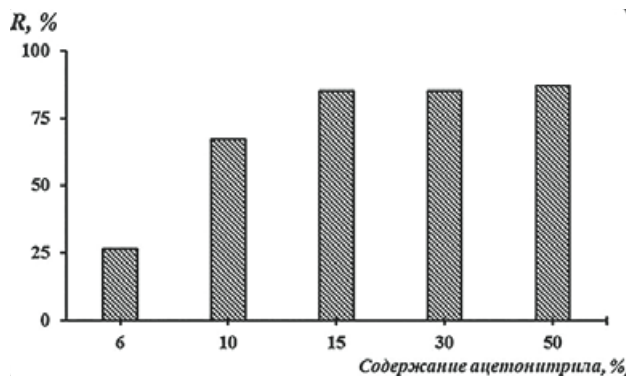


Рис. 1. Зависимость степени извлечения аценафтилена из почвы от концентрации ацетонитрила в экстракционной системе.

Fig. 1. Dependence of the acenaphthene recovery from soil on the acetonitrile concentration in the extractive mixture.

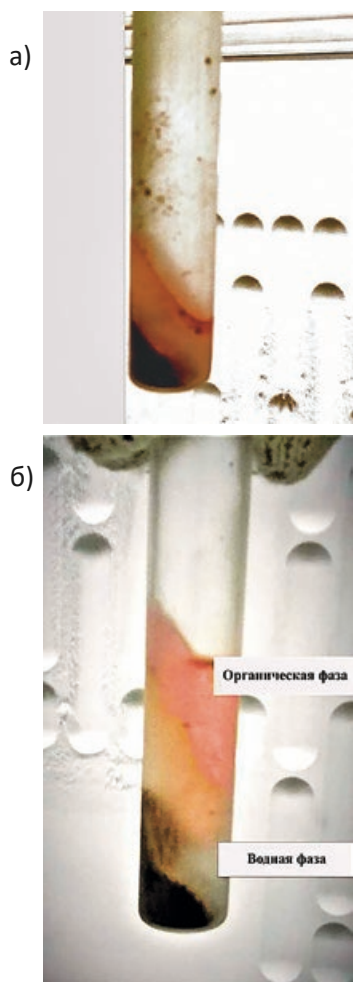


Рис. 2. Экстракционные системы после процедуры ЭВЦ, в условиях которой органическая фаза не отделялась (а) и отделялась (б).

Fig. 2. The extractive mixtures after extractive freezing-out and centrifugation of the samples: а) organic phase wasn't separated from the solid aqueous phase; б) organic phase was separated from the solid aqueous phase.



Рис. 3. Схемы пробоподготовки почв и донных отложений при ГХ-МС-определении ПАУ с использованием техники ЭВЦ.

Fig. 3. The procedure of the sample preparation involving extractive freezing-out and centrifugation of the samples for the PAHs determination in soils and bottom sediments using GC-MS.

в условиях, когда концентрация ацетонитрила в смеси составляла менее 20 %, органическая фаза не отделялась, удерживаясь в трещинах льда. Это обусловлено, по-видимому, недостаточным давлением столба жидкости на нижнюю часть образца, где протекает образование кристаллов воды. Для повышения наглядности распределения ПАУ между фазами в экстракционные системы добавляли гидрофобный растворитель Судан III. Из рис. 2, а видно, что при использовании менее 20 % ацетонитрила в смеси распределение фаз не наблюдается. С увеличением общего объема экстракционной смеси до 10 мл происходит отделение органической фазы (рис. 2, б).

В зависимости от поставленной задачи можно использовать две разные схемы пробоподготовки почв и донных отложений с использованием техники ЭВЦ при ГХ-МС-определении ПАУ (рис. 3). Если стоит задача определения «легких» компонентов, то предпочтительно и достаточно применения экстракционной смеси с 15 % ацетонитрила. Были рассчитаны пределы ГХ-МС-определения аналитов по методике с применением данной схемы пробоподготовки. При этом учитывали массу навески, влажность образца, объем экстракта, степень извлечения и предел обнаружения веществ. В данных условиях их значения варьировали от 0.83 до 0.92 мкг/кг (табл. 3).

При одновременном ГХ-МС-определении 20 ПАУ оптимально использование экстракционной смеси с 50 % ацетонитрила. При этом пределы определения для «легких» ПАУ повышались до 5.0 мкг/кг, а для «тяжелых» составляли 1.0 мкг/кг. Все экспериментальные исследования проводили на образцах почв и донных отложений при навеске 1-2 г с учетом естественной влажности образцов. Объем ацетонитрильного экстракта после вымораживания

Таблица 3

Степень извлечения и пределы ГХ-МС-определения «легких» ПАУ в почвах и донных отложениях 15 % ацетонитрила в экстракционной смеси

Table 3

Recovery and limits of using GC-MS determination of light PAHs in soils and bottom sediments with 15 % acetonitrile in the extractive mixture

Наименование ПАУ	Степень извлечения, %	Предел определения, мкг/кг
Нафталин	98	0.83
2-Метилнафталин	94	0.86
Аценафтилен	101	0.84
Бифенил	95	0.86
Аценафтен	96	0.91
Флуорен	97	0.89
Фенантрен	92	0.88
Антрацен	86	0.90
Флуорантен	85	0.87
Пирен	82	0.92

определяли весовым методом. В одинаковых условиях проведения ЭВЦ масса получаемого экстракта при анализе образцов почв (донных отложений) являлась воспроизводимой величиной.

Для оценки достоверности работы предложенной схемы пробоподготовки с использованием метода «введено-найденно» проводили анализ реальных

образцов донных отложений Азовского моря, не содержащих определяемые компоненты. В образцы вносили добавки ГСО ПАУ с концентрациями каждого 6.0; 25 и 50 мкг/кг и проводили ГХ-МС-анализ (табл. 4). Полученные данные свидетельствуют об удовлетворительных результатах анализа и возможности применения техники ЭВЦ при хроматомасс-спектрометрическом определении ПАУ в почвах и донных отложениях.

Апробацию методики ГХ-МС-определения 20 ПАУ в почвах и донных отложениях с использованием техники ЭВЦ проводили на реальных образцах почв Имеретинской низменности (г. Сочи), песка о. Кайо Романо (Куба), донных отложений Курчанского лимана (Темрюкский р-н) и Азовского моря (Темрюкский залив). В образцах песка обнаружили следовые концентрации фенантрена, флуорена и пирена, что, вероятно, обусловлено выбросами транспортных средств, миграцией техногенных ПАУ с атмосферными массами и их адсорбцией на твердых частицах. В почвах Имеретинской низменности концентрации ПАУ находились на уровне фоновых для индустриальных центров и суммарно не превышали 100 мкг/кг (табл. 5). Наибольшие значения содержания ПАУ установлены в донных отложениях Курчанского лимана, что может свидетельствовать об интенсивной хозяйственной деятельности на данной территории (рис. 4, а). Наличие «тяжелых» ПАУ в донных отложениях Темрюкского залива (рис. 4, б) обусловлено, по-видимому, попаданием частиц

Таблица 4

Результаты ГХ-МС-определения ПАУ в донных отложениях с использованием техники ЭВЦ ($n = 5$, $P = 0.95$)

Table 4

Results of the GC-MS analysis of the PAHs determination in bottom sediments using the extractive freezing-out and centrifugation of the samples technique ($n = 5$, $P = 0.95$)

ПАУ	C _{ПАУ} , мкг/кг					
	Введено	Найдено	Введено	Найдено	Введено	Найдено
Нафталин	6.0	5.8 ± 0.9	25	24 ± 4	50	48 ± 9
2-Метилнафталин	6.0	5.8 ± 0.7	25	22 ± 3	50	44 ± 6
Аценафтилен	6.0	5.7 ± 0.7	25	20 ± 3	50	46 ± 6
Бифенил	6.0	5.8 ± 0.8	25	21 ± 3	50	45 ± 6
Аценафтен	6.0	5.9 ± 0.8	25	23 ± 4	50	51 ± 9
Флуорен	6.0	5.8 ± 0.8	25	26 ± 4	50	50 ± 9
Фенантрен	6.0	6.4 ± 0.8	25	25 ± 4	50	47 ± 7
Антрацен	6.0	5.7 ± 0.7	25	24 ± 4	50	46 ± 7
Флуорантен	6.0	5.6 ± 0.6	25	23 ± 3	50	46 ± 6
Пирен	6.0	5.8 ± 0.7	25	22 ± 3	50	45 ± 6
Бенз[а]антрацен	6.0	5.8 ± 0.7	25	26 ± 4	50	44 ± 6
Хризен	6.0	6.5 ± 0.6	25	25 ± 3	50	48 ± 6
Трифенилен	6.0	5.5 ± 0.5	25	25 ± 3	50	51 ± 6
Бенз[б]флуорантен	6.0	5.7 ± 0.6	25	21 ± 3	50	51 ± 6
Бенз[к]флуорантен	6.0	5.7 ± 0.7	25	24 ± 3	50	50 ± 7
Бенз[е]пирен	6.0	5.8 ± 0.6	25	23 ± 3	50	49 ± 6
Бенз[а]пирен	6.0	6.6 ± 0.7	25	22 ± 3	50	48 ± 6
Инден[1,2,3-с,д]пирен	6.0	5.7 ± 0.6	25	24 ± 3	50	48 ± 6
Дибенз[а,н]антрацен	6.0	5.6 ± 0.7	25	21 ± 3	50	45 ± 7
Бенз[г,н,и]перилен	6.0	6.4 ± 0.8	25	21 ± 3	50	46 ± 7

Таблица 5

Результаты ГХ-МС-определения ПАУ в реальных объектах ($n = 2$, $P = 0.95$)

Table 5

Results of the GC-MS PAHs determination in real samples ($n = 2$, $P = 0.95$)

ПАУ	$C_{\text{ПАУ}}$, мкг/кг			
	Почвы (Сочи)	Песок (Куба)	Морские ДО (Азовское море)	Речные ДО (Курчанский лиман)
Нафталин	< 5.0	< 5.0	< 5.0	38 ± 6
2-Метилнафталин	< 5.0	< 5.0	< 5.0	13 ± 2
Аценафтилен	< 5.0	< 5.0	< 5.0	5.7 ± 0.9
Бифенил	< 5.0	< 5.0	< 5.0	15 ± 2
Аценафтен	< 5.0	< 5.0	< 5.0	< 5.0
Флуорен	< 5.0	< 5.0	11 ± 2	28 ± 4
Фенантрен	< 1.0	< 1.0	12 ± 2	26 ± 4
Антрацен	< 1.0	< 1.0	1.1 ± 0.2	1.7 ± 0.2
Флуорантен	8.4 ± 1.2	< 1.0	< 1.0	7.9 ± 1.3
Пирен	7.1 ± 1.0	< 1.0	16 ± 2	18 ± 2
Бенз[а]антрацен	12 ± 2	< 1.0	12 ± 2	11 ± 2
Хризен	1.5 ± 0.2	< 1.0	6.0 ± 0.9	2.3 ± 0.3
Трифенилен	2.7 ± 0.3	< 1.0	12 ± 1	2.0 ± 0.2
Бенз[б]флуорантен	10 ± 1	< 1.0	13 ± 2	1.2 ± 0.1
Бенз[к]флуорантен	2.8 ± 0.5	< 1.0	3.3 ± 0.5	2.1 ± 0.3
Бенз[а]пирен	3.2 ± 0.5	< 1.0	4.1 ± 0.6	5.8 ± 0.8
Бенз[е]пирен	3.1 ± 0.4	< 1.0	1.7 ± 0.2	1.5 ± 0.2
Индено[1,2,3-с,d]пирен	5.2 ± 0.7	< 1.0	1.6 ± 0.2	2.8 ± 0.4
Дибенз[а,h]антрацен	1.8 ± 0.3	< 1.0	6.7 ± 0.9	3.1 ± 0.4
Бенз[g,h,i]перилен	3.9 ± 0.6	< 1.0	< 1.0	4.4 ± 0.6

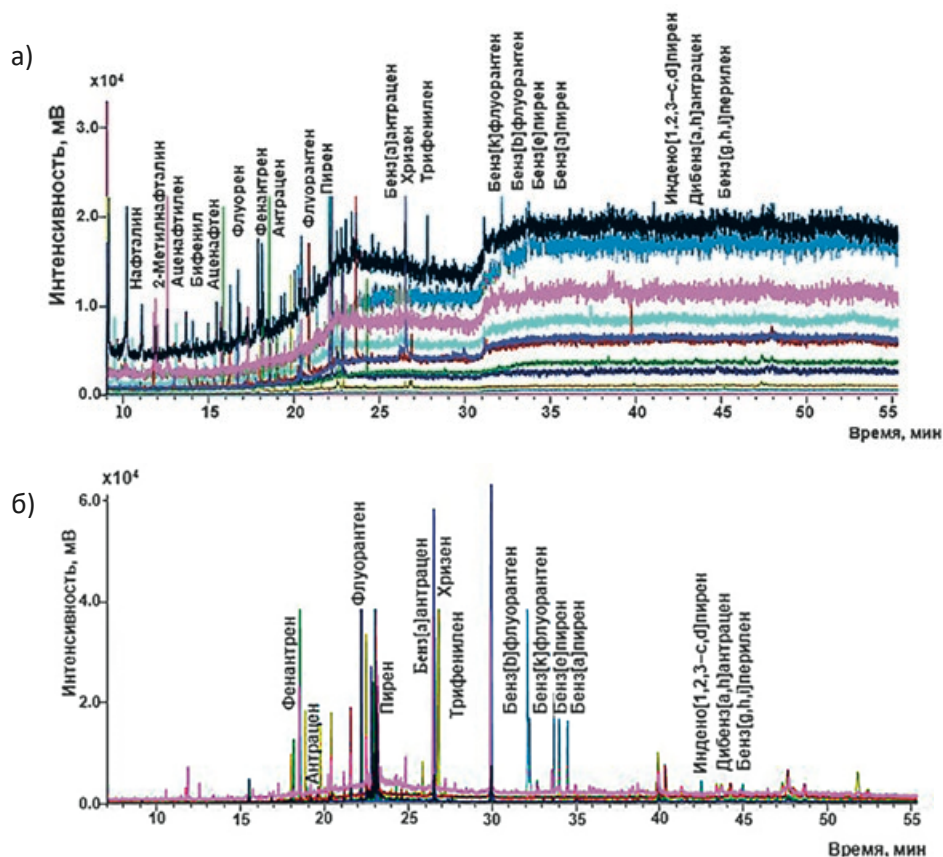


Рис. 4. Хроматограммы ацетонитрильных экстрактов образцов донных отложений, отобранных в Темрюкском заливе Азовского моря (а) и Курчанском лимане Темрюкского р-на (б).

Fig. 4. Extracts' chromatograms of bottom sediments: а) Azov Sea, The Temryuk Bay; б) Kurchansky estuary, Temryuk district.

Таблица 6

Аналитические характеристики методик ГХ-МС-определения ПАУ в почве и донных отложениях с использованием различных вариантов пробоподготовки

Table 6

Analytical characteristics of the GC-MS PAHs determination methods in soils and bottom sediments using the different variants of sample preparation

Компонент	Варианты пробоподготовки									
	DLLME [37]		SPME [38]		МЭ [22]		HLLC [19]		ЭВЦ	
	ПО, мкг/кг	R, %	ПО, мкг/кг	R, %	ПО, мкг/кг	R, %	ПО, мкг/кг	R, %	ПО, мкг/кг	R, %
Нафталин	0.5	96	0.9	83	0.7	100	н/о		5.0	86
2-Метилнафталин	0.5	98	н/о		н/о		н/о		5.0	87
Аценафтен	0.5	96	0.40	93	н/о		20	77	5.0	86
Бифенил	0.5	96	н/о		н/о		н/о		5.0	88
Аценафтилен	0.5	98	0.83	97	0.4	92	10	67	5.0	87
Флуорен	0.5	96	0.28	92	0.7	92	20	77	5.0	83
Фенантрен	0.5	98	1.23	95	н/о		30	75	5.0	91
Антрацен	0.2	84	0.23	90	н/о		30	60	5.0	96
Флуорантен	0.2	78	0.56	89	0.4	92	20	57	5.0	97
Пирен	0.2	89	1.18	100	0.2	100	10	80	5.0	92
Бенз[а]антрацен	0.2	83	2.53	90	0.1	95	10	78	1.0	90
Хризен	0.2	87	0.30	100	0.3	99	2.0	83	1.0	87
Трифенилен	0.2	84	н/о		н/о		н/о		1.0	63
Бенз[б]флуорантен	0.2	89	1.20	92	0.2	96	20	83	1.0	69
Бенз[к]флуорантен	0.2	89	0.22	90	0.2	95	30	80	1.0	67
Бенз[е]пирен	0.2	92	н/о		н/о		н/о		1.0	64
Бенз[а]пирен	0.2	85	0.43	100	0.1	93	50	92	1.0	86
Инден[1,2,3-с,д]пирен	0.2	85	0.49	100	н/о		50	87	1.0	71
Дибенз[а,г]антрацен	0.2	83	0.43	97	н/о		40	85	1.0	74
Бенз[г,и,п]перилен	0.2	96	0.48	99	н/о		60	81	1.0	61

Примечание: н/о – не определялся по данной методике

техногенного происхождения с ливневыми стоками, а также судоходством в акватории Азовского моря [35, 36].

Показатели эффективности извлечения (R) и концентрирования ПАУ из почв и донных отложений с применением разработанной пробоподготовки сравнивали с известными в литературе альтернативными вариантами: дисперсионной жидкость-жидкостной микроэкстракцией (DLLME) [37], гомогенной жидкость-жидкостной экстракцией (HLLC) [19], экстракцией при помощи микроэмульсии (МЭ) [22], а также с вариантом твердофазной микроэкстракции (SPME) [38] (табл. 6). Предложенный способ имеет более низкие значения по пределам определения (ПО) аналитов по сравнению с применением техники HLLC. Несмотря на сравнительно более низкие пределы определения ПАУ при использовании техник DLLME, SPME и МЭ, экстракционное вымораживание под действием центробежных сил также обеспечивает определение аналитов в почвах и донных отложениях ниже ПДК. При этом техника ЭВЦ является относительно простой при проведении, экспрессной, позволяет проводить извлечение, очистку и концентрирование аналитов в одну стадию.

БЛАГОДАРНОСТИ

Исследования проводились в рамках выполнения гранта РФФИ (№ 19-43-230003 p_a) с использованием научного оборудования ЦКП "Эколого-аналитический центр" Кубанского госуниверситета.

ACKNOWLEDGMENTS

Current work was funded by RFBR according to the research project (№ 19-43-230003 p_a). The scientific equipment of "Ecological and Analytical Center" of the Kuban State University was used.

ЛИТЕРАТУРА

1. Błaszczak E., Mielżyńska-Śvach D. Polycyclic aromatic hydrocarbons and PAH-related DNA adducts // J. Appl. Genet. 2017. V. 58, № 3. P. 321-330.
2. Comparison of the genotoxic activities of the K-region dihydrodiol of benzo[a]pyrene with benzo[a]pyrene in mammalian cells: morphological cell transformation; DNA damage; and stable covalent DNA adducts / S. Nesnow [et al.] // Mutation Research. 2002. V. 521, № 1-2. P. 91-102.
3. Baird W. M., Hooven L. A., Mahadevan B. Carcinogenic Polycyclic Aromatic Hydrocarbon-DNA adducts and mechanism of action // Environ. Mol. Mutagen. 2005. V. 45, № 2-3. P. 106-114.

4. Yan L.S. Study of the carcinogenic mechanism for polycyclic aromatic hydrocarbons — extended bay region theory and its quantitative model // *Carcinogenesis*. 1985. V.6, № 1. P. 1-6.
5. Characterization of a cytochrome P450 monooxygenase capable of high molecular weight PAHs oxidation from *Rhodococcus* sp. P14 / A. Luo [et al.] // *Process Biochemistry*. 2016. V. 51, № 12. P. 2127-2133.
6. Polynuclear aromatic compounds, Part I, Chemical, environmental, and experimental data. IARC, International Agency for Research on Cancer monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to human / World Health Organization. Switzerland. Geneva, 1983. 477 p.
7. WHO report on the global tobacco epidemic, 2015: raising taxes on tobacco / World Health Organization, Switzerland. Geneva, 2015. 103 p.
8. Public Health Statement Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs). ATSDR, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Department Of Health And Human Services / Public Health Service. Atlanta, 1995. 6 p.
9. Kameda T. Atmospheric chemistry of polycyclic aromatic hydrocarbons and related compounds // *J. Health Sci.* 2011. V. 57, №6. P. 504-511.
10. Angerer J., Mannschreck C., Gundel J. Biological Monitoring and Biochemical Effect Monitoring of Exposure to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons // *Int. Arch. Occup. Environ. Health*. 1997. V. 70, № 70. P. 365-377.
11. Johnsen A.R., Wick L.Y., Harms H. Principles of microbial PAH-degradation in soil // *Environ. Pollution*. 2005. V. 133, № 1. P. 71-84.
12. Park K.S., Sims R.C., Dupont R.R. Transformation of PAHs in soil systems // *J. Environ. Eng.* 1990. V. 116, № 3. P. 632-640.
13. De Boer J., Law R.J. Developments in the use of chromatographic techniques in marine laboratories for the determination of halogenated contaminants and polycyclic aromatic hydrocarbons // *J. Chromatogr. A*. 2003. V. 1000, № 1-2. P. 223-251.
14. Lee H.K. Modern techniques for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons // *Handbook of Analytical Separations*. 2001. V. 3. P. 39-74.
15. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface water by column liquid chromatography with fluorescence detection, using on-line micelle-mediated sample preparation / E.R. Brouwer [et al.] // *J. Chromatogr. A*. 1994. V. 669, № 1-2. P. 45-57.
16. McDowall R.D. Sample preparation for biochemical analysis // *J. Chromatogr. A*. 1989. V. 492. P. 3-58.
17. Banjoo D.R., Nelson P.K. Improved ultrasonic extraction procedure for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments // *J. Chromatogr. A*. 2005. V. 1066, № 1-2. P. 9-18.
18. Filipkowska A., Lubecki L., Kowalewska G. Polycyclic aromatic hydrocarbon analysis in different matrices of the marine environment // *Anal. Chim. Acta*. 2005. V. 547, № 2. P. 243-254.
19. Hassan J., Izadib M., Homayonnejad S. Application of Low Density Homogeneous Liquid-Liquid Extraction Combined with GC for TPH and PAH Determination in Semi-micro Solid Samples // *J. Braz. Chem. Soc.* 2013. V. 24, № 4. P. 639-644.
20. Homogeneous liquid-liquid extraction for preconcentration of polycyclic aromatic hydrocarbons using a water/methanol/chloroform ternary component system / L. Tavakoli [et al.] // *J. Chromatogr. A*. 2008. V. 1196-1197. P. 133-138.
21. Zhu L., Shaoliang F. Synergistic solubilization of polycyclic aromatic hydrocarbons by mixed anionic-nonionic surfactants // *Chemosphere*. 2002. V. 53, № 5. P. 459-467.
22. Применение микроэмульсии для извлечения. Концентрирования и определения десяти ПАУ из различных типов почв / Н.Г. Толмачева и др. // *Журн. аналит. химии*. 2017. Т. 72, № 6. С. 515-520.
23. New protocol based on high-volume sampling followed by DLLME-GC-IT/MS for determining PAHs at ultra-trace levels in surface water samples / P. Avino, [et al.] // *Microchemical Journal*. 2017. V. 133. P. 251-257.
24. Vortex-assisted extraction combined with dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediment by high performance liquid chromatography / G. Leng [et al.] // *J. Sep. Sci.* 2012. V. 35, № 20. P. 2796-2804.
25. Zorn W.M. Method of making concentrated fruit juice. US Patent 1636890. 1927. 4 p.
26. Vieira H. P., Neves A. A., Queiroz M. E. L. R. Optimization and validation of liquid-liquid extraction with the low temperature partition technique (LLE – LTP) for pyrethroids in water and GC analysis // *Química Nova*. 2007. V. 30, № 3. P. 535-540.
27. Optimization of the liquid-liquid extraction method and low temperature purification (LLE – LTP) for pesticide residue analysis in honey samples by gas chromatography / G. P. D. Pinho [et al.] // *Food Control*. 2010. V. 21, № 10. P. 1307-1311.
28. ICE Concentration Linked with Extractive Stirrer (ICE-CLES) / N. Maslamani [et al.] // *Anal. Chim. Acta*. 2016. V. 941. P. 41-48.
29. Yoshida M., Akane A. Subzero-temperature liquid-liquid extraction of benzodiazepines for high-performance liquid chromatography // *Anal. Chem.* 1999. V. 71, № 9. P. 1918-1921.
30. Schneider G. M. Aqueous solutions at pressures up to 2 GPa: gas-gas equilibria, closed loops, high-pressure immiscibility, salt effects and related phenomena // *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2002. V. 4, № 4. P. 845-852.
31. Бехтерев В.Н. Закономерности поведения растворенных органических веществ в условиях экстракционного вымораживания // *Журн. аналит. химии*. 2011. Т. 66, №6. С. 608-613.
32. Subzero-Temperature Liquid-Liquid Extraction Coupled with UPLC-MS-MS for the Simultaneous Determination of 12 Bioactive Components in Traditional Chinese Medicine Gegen-Qinlian Decoction / Z. Shi [et al.] // *J. Chrom. Sci.* 2015. V. 53, № 8. P. 1407-1413.
33. Bekhterev V.N., Gavrilova S.N., Shipanov I.N. The use of extractive freezing-out at the stage of preliminary preparation of bioprobes in GC-MS chemico-toxicological analysis // *Sud. Med. Ekspert*. 2019. V. 62, № 6. P. 53-57.
34. Темердашев З.А., Мусорина Т.Н., Червонная Т.А. Хроматомасс-спектрометрическое определение полициклических ароматических углеводородов в почвах и донных отложениях с применением техники дисперсионной жидкостно-жидкостной микроэкстракции // *Журн. аналит. химии*. 2020. Т.75, № 8. С. 1-12.
35. Нефтяные компоненты и тяжелые металлы в выбросах грязевого вулкана «Голубицкий» / Л.Ф. Павленко [и др.] // *Защита окружающей среды в нефтегазовом комплексе*. 2017. № 7. С. 29-34.
36. Особенности установления компонентного состава нефтяного загрязнения экосистем Азовского и Черного морей / Л.Ф. Павленко [и др.] // *Экологический вестник научных центров Черноморского экономического сотрудничества*. 2012. Т. 9, № 4. С. 76-82.
37. Пат. 2719578 Российская Федерация, МПК G01N 30/06. Способ определения полициклических ароматических углеводородов в почвах и донных отложениях / Червонная Т.А., Мусорина Т.Н., Темердашев З.А.; зая-

витель и патентообладатель ФГБОУ ВО «КубГУ». – № 2019115408; заявл. 20.05.2019; опубл. 21.04.2020., Бюл. №12. 13с.

38. Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Coastal Sediments from the Porto Region (Portugal) by Microwave-Assisted Extraction, Followed by SPME and GC–MS / M. J. Rocha [et al.] // J. Chrom. Sci. 2011. V. 49, №9. P. 695-701.

REFERENCES

1. Błaszczyk E., Mielżyńska-Švach D. Polycyclic aromatic hydrocarbons and PAH-related DNA adducts. *Journal of Applied Genetics*, 2017, vol.58, no.3, pp. 321-330. doi: 10.1007/s13353-016-0380-3.
2. Nesnow S., Davis C., Nelson G., Lambert G., Padgett W., Pimentel M., Tennant A., Kligerman A., Ross J. Comparison of the genotoxic activities of the K-region dihydrodiol of benzo[a]pyrene with benzo[a]pyrene in mammalian cells: morphological cell transformation; DNA damage; and stable covalent DNA adducts. *Mutation Research*, 2002, vol. 521, no. 1-2, pp. 91-102. doi: 10.1016/s1383-5718(02)00218-8.
3. Baird W. M., Hooven L.A., Mahadevan B. Carcinogenic Polycyclic Aromatic Hydrocarbon-DNA adducts and mechanism of action. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 2005, vol. 45, no. 2-3, pp. 106-114. doi: 10.1002/em.20095.
4. Yan L.S. Study of the carcinogenic mechanism for polycyclic aromatic hydrocarbons — extended bay region theory and its quantitative model. *Carcinogenesis*, 1985, vol. 6, no. 1, pp. 1-6. doi: 10.1093/CARCIN/6.1.1.
5. Luo A., Wu Y.-R., Xu Y., Kan J., Qiao J., Liang L., Huang T., Hu Z. Characterization of a cytochrome P450 monooxygenase capable of high molecular weight PAHs oxidation from *Rhodococcus* sp. P14. *Process Biochemistry*, 2016, vol. 51, no. 12, pp. 2127-2133. doi:10.1016/j.procbio.2016.07.024.
6. IARC, *International Agency for Research on Cancer monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to human. Polynuclear aromatic compounds, Part I, Chemical, environmental, and experimental data*. World Health Organization. Switzerland. Geneva, 1983, 477 p.
7. *WHO report on the global tobacco epidemic, 2015: raising taxes on tobacco*. World Health Organization. Switzerland. Geneva, 2015, 103 p.
8. *ATSDR, Public Health Statement Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs). Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Department Of Health And Human Services*. Public Health Service. Atlanta, 1995, 6 p.
9. Kameda T. Atmospheric chemistry of polycyclic aromatic hydrocarbons and related compounds. *Journal of Health Science*, 2011, vol. 57, no.6, pp. 504-511. doi:10.1248/jhs.57.504.
10. Angerer J., Mannschreck C., Gundel J. Biological Monitoring and Biochemical Effect Monitoring of Exposure to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *International Archives of Occupational and Environmental Health*, 1997, vol.70, pp. 365-377. doi:10.1007/s004200050231.
11. Johnsen A.R., Wick L.Y., Harms H. Principles of microbial PAH-degradation in soil. *Environmental Pollution*, 2005, vol.133, no.1, pp. 71-84. doi:10.1016/j.envpol.2004.04.015.
12. Park K.S., Sims R.C., Dupont R.R. Transformation of PAHs in soil systems. *Journal of Environmental Engineering*, 1990, vol.116, no.3, pp. 632-640. doi: 10.1061/(asce)0733-9372(1990)116:3(632).
13. De Boer J., Law R.J. Developments in the use of chromatographic techniques in marine laboratories for the determination of halogenated contaminants and polycyclic aromatic hydrocarbons. *Journal of Chromatography A*, 2003, vol.1000, no.1-2, pp. 223-251. doi:10.1016/s0021-9673(03)00309-1.
14. Lee H.K. Modern techniques for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Handbook of Analytical Separations*, 2001, vol.3, pp. 39-74.
15. Brouwer E.R., Hermans A.N.J., Lingeman H., Brinkman U.A.Th. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface water by column liquid chromatography with fluorescence detection, using on-line micelle-mediated sample preparation. *Journal of Chromatography A*, 1994, vol.669, no.1-2, pp. 45-57. doi: 10.1016/0021-9673(94)80335-8.
16. McDowall R.D. Sample preparation for biochemical analysis. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 1989, vol.492, pp. 3-58. doi:10.1016/S0378-4347(00)84463-1.
17. Banjoo D.R., Nelson P.K. Improved ultrasonic extraction procedure for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments. *Journal of Chromatography A*, 2005, vol.1066, no.1-2, pp. 9-18. doi: 10.1016/j.chroma.2005.01.033.
18. Filipkowska A., Lubecki L., Kowalewska G. Polycyclic aromatic hydrocarbon analysis in different matrices of the marine environment. *Analytica Chimica Acta*, 2005, vol.547, no.2, pp. 243-254. doi:10.1016/j.aca.2005.05.023.
19. Hassan J., Izadib M., Homayonnejad S. Application of Low Density Homogeneous Liquid-Liquid Extraction Combined with GC for TPH and PAH Determination in Semi-micro Solid Samples. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 2013, vol.24, no.4, pp. 639-644. doi:10.5935/0103-5053.20130080.
20. Tavakoli L., Yamini Y., Ebrahimzadeh H., Shariati S. Homogeneous liquid-liquid extraction for preconcentration of polycyclic aromatic hydrocarbons using a water/methanol/chloroform ternary component system. *Journal of Chromatography A*, 2008, vol. 1196-1197, pp. 133-138. doi: 10.1016/j.chroma.2008.04.036.
21. Zhu L., Shaoliang F. Synergistic solubilization of polycyclic aromatic hydrocarbons by mixed anionic–nonionic surfactants. *Chemosphere*, 2002, vol.53, no.5, pp. 459-467. doi:10.1016/s0045-6535(03)00541-1.
22. Tolmacheva N. G., Zhang M., Pirogov A., Popik M. V., Shpigun O. Application of microemulsions to the recovery, preconcentration, and determination of ten surfactants from various soils. *Journal of Analytical Chemistry*, 2017, vol. 72., no.7, pp. 602-607 doi: 10.1134/S1061934817060156.
23. Avino P., Notardonato I., Perugini L., Russo M. V. New protocol based on high-volume sampling followed by DLLME-GC-IT/MS for determining PAHs at ultra-trace levels in surface water samples. *Microchemical Journal*, 2017, vol.133, pp. 251-257. doi: 10.1016/j.microc.2017.03.052.
24. Leng G., Lui G., Chen Y., Yin H., Dan D. Vortex-assisted extraction combined with dispersive liquid–liquid microextraction for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediment by high performance liquid chromatography. *Journal of Separation Science*, 2012, vol. 35, no. 20, pp. 2796-2804. doi:10.1002/jssc.201200234.
25. Zorn W.M. *Method of making concentrated fruit juice*. US Patent, US728111A, 1927.
26. Vieira H. P., Neves A. A., Queiroz M. E. L. R. Optimization and validation of liquid-liquid extraction with the low temperature partition technique (LLE – LTP) for pyrethroids in water and GC analysis. *Química Nova*, 2007, vol. 30. no. 3, pp. 535-540. doi: 10.1590/s0100-40422007000300006.
27. Pinho G. P., Neves A. A., Queiroz M. E. L.R., Silvério F. O. Optimization of the liquid–liquid extraction method and low temperature purification (LLE – LTP) for pesticide residue analysis in honey samples by gas chromatography. *Food Control*, 2010, vol. 21, no. 10, pp. 1307-1311. doi: 10.1016/j.foodcont.2010.03.006.

28. Maslamani N., Manandhar E., Geremia D. K., Logue B.A. ICE Concentration Linked with Extractive Stirrer (ICE-CLES). *Analytica Chimica Acta*, 2016, vol. 941, pp. 41-48. doi:10.1016/j.aca.2016.09.003.
29. Yoshida M., Akane A. Subzero-temperature liquid-liquid extraction of benzodiazepines for high-performance liquid chromatography. *Analytical Chemistry*, 1999, vol. 71, no. 9, pp. 1918-1921. doi:10.1021/ac981276g.
30. Schneider G. M. Aqueous solutions at pressures up to 2 GPa: gas-gas equilibria, closed loops, high-pressure immiscibility, salt effects and related phenomena. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2002, vol. 4, no. 6, pp. 845-852. doi: 10.1039/b109277b.
31. Bekhterev V.N. Trends in the behavior of dissolved organic substances under the conditions of freeze extraction. *Journal of Analytical Chemistry*, 2011, vol. 66, no. 591, pp. 591-595. doi: 10.1134/s1061934811060025.
32. Shi Z., Li Z., Zhang S., Fu H., Zhang H. Subzero-Temperature Liquid-Liquid Extraction Coupled with UPLC-MS-MS for the Simultaneous Determination of 12 Bioactive Components in Traditional Chinese Medicine Gegen-Qinlian Decoction. *Journal of Chromatographic Science*, 2015, vol. 53, no. 8, pp. 1407-1413. doi: 10.1093/chromsci/bmu226.
33. Bekhterev V.N., Gavrilova S.N., Shipanov I.N. The use of extractive freezing-out at the stage of preliminary preparation of bioprobes in GC-MS chemico-toxicological analysis. *SudMedEkspert*, 2019, vol. 62, no. 6, pp. 53-57. doi: 10.17116/sudmed20196206153.
34. Temerdashev Z.A., Musorina T.N., Chervonnaya T.A. Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Soil and Bottom Sediments by Gas Chromatography-Mass Spectrometry Using Dispersive Liquid-Liquid Microextraction. *Journal of Analytical Chemistry*, 2020, vol. 75, pp. 1000-1010. doi: 10.1134/s1061934820080158.
35. Pavlenko L. F., Korpakova I. G., Eletskiy B. D., Skripnik G. V., Kurilov P. I., Votnova T. V., Anohina N. S., Korablina I. V. [Oil components and heavy metals in blowouts of Golubitsky mud volcano]. *Zashchita okruzhaiushchei sredy v neftegazovom komplekse* [Environmental protection in the oil and gas complex], 2017, vol.7, pp. 29-34 (in Russian)
36. Pavlenko L. F., Larin A. A., Skorokhod I. A., Korpakova I. G., Temerdashev Z. A. Specific features of establishing the component of composition oil pollution of the ecosystems of the Azov and Black Sea. *Ekologicheskii vestnik nauchnykh tsentrov Chernomorskogo ekonomicheskogo sotrudnichestva* [Ecological Bulletin of Scientific Centers of the Black Sea Economic Cooperation], 2012, vol. 9, no. 4, pp. 76-82 (in Russian)
37. Chervonnaia T.A., e.a. *Sposob opredeleniia politsiklicheskikh aromaticsikh uglevodorodov v pochvakh i donnykh otlozheniyakh* [The way to determination polycyclic aromatic hydrocarbons in soils and bottom sediments]. Patent RF, no. 2019115408, 2019 (in Russian).
38. Rocha M. J., Rocha E., Cruzeiro C., Ferreira P. C., Reis P. A. Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Coastal Sediments from the Porto Region (Portugal) by Microwave-Assisted Extraction, Followed by SPME and GC-MS. *Journal of Chromatographic Science*, 2011, vol.49, no.9, pp. 695-701. doi.org/10.1093/chrscli/49.9.695